

اثر تجویز طولانی مدت اکسید روی در اندازه نانو و معمولی بر ساختار بافتی هیپوکمپ موش سوری نر بالغ

نرگس عیسی پره^۱، دکتر مهناز کسمتی^۲، دکتر طیه محمدی^۳

نویسنده‌ی مسوول: اهواز، دانشگاه شهید چمران، دانشکده‌ی علوم، گروه زیست شناسی m.kesmati@scu.ac.ir

دریافت: ۹۳/۹/۸ پذیرش: ۹۴/۴/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: کاربرد وسیع نانوذرات اکسید روی در صنایع پزشکی، دارویی، تغذیه و نتایج ضد و نقیض در مطالعات نورولوژیکی این ترکیب در مقایسه با نوع معمولی ضرورت بررسی بیشتر را نشان می‌دهد. هدف از این مطالعه بررسی هیستولوژیک بافت هیپوکمپ (به‌عنوان ناحیه‌ی درگیر در فرآیند حافظه) متعاقب تجویز طولانی مدت نانوذرات اکسید روی در مقایسه با اکسید روی معمولی بوده است. **روش بررسی:** در این تحقیق از موش سوری نر بالغ نژاد *NMRI* با وزن تقریبی ۲۵ گرم استفاده شد. موش‌ها به پنج گروه: کنترل (سالین)، دریافت کننده نانو اکسید روی و اکسید روی معمولی در مقادیر ۱ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تقسیم شدند. پس از یک‌ماه تیمار با داروهای فوق، حیوانات آسان کشی شده و مغز آن‌ها جهت بررسی‌های بافتی از هیپوکمپ خارج و مورد مطالعه‌ی بافت شناسی قرار گرفتند. **یافته‌ها:** نانو ذرات اکسید روی منجر به نکروز سلول‌ها در برخی نواحی هیپوکمپ شد در حالی که اکسید روی معمولی اثر تخریبی قابل ملاحظه‌ای نشان نداد. این تغییرات در دوز ۱ میلی‌گرم نانو اکسید روی بارزتر بود. **نتیجه گیری:** نانو ذرات اکسید روی احتمالاً با عبور راحت تر از سد خونی - مغزی اثرات تخریبی خود را بر سلول‌های هیپوکمپ مغزی اعمال نموده، بدین ترتیب باید در استفاده ترکیبات در سایز نانو در داروها احتیاط‌های لازم مد نظر قرار گیرد. **واژگان کلیدی:** هیپوکمپ، نانوذرات، اکسید روی، موش سوری

مقدمه

امروزه نانو ذرات اکسید فلزی به سبب کاربرد وسیع به سرعت وارد محیط زیست و سیستم زندگی انسان گردیده‌اند (۱). نانو ذرات اکسید روی یکی از پرکاربردترین نانو ذراتی است که در حوزه‌ی صنعت، پزشکی، داروسازی، بهداشتی آرایشی و تغذیه موارد استفاده‌ی زیادی دارد (۲). تاکنون مطالعات محدودی در خصوص اثرات این نانو ذره بر سیستم عصبی انجام شده که نشان دهنده‌ی اثرات مثبت و منفی این نانو ذره بر فعالیت‌های عصبی می‌باشد. اثرات ضد اضطرابی و ضد دردی این نانو ذره در تجویزهای حاد و مزمن در چندین مطالعه نشان داده شده است (۳). همچنین

۱- کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

۲- دکترای فیزیولوژی، استاد گروه زیست شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

۳- دکترای بافت شناسی، استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

به ویژه هیپوکمپ انجام نشده است. هیپوکمپ جزء مهم سیستم لیمبیک و بخشی از قشر پره فرونتال است که نقش مهمی در حافظه و یادگیری ایفا می کند (۱۳ و ۱۲ و ۱۱). با توجه به اثرات متناقض اکسید روی بر برخی رفتارهای عصبی و با توجه به جایگاه و اهمیت هیپوکمپ در مغز، هدف از این مطالعه بررسی هیستولوژیک هیپوکمپ مغز موش سوری در تجویز دراز مدت نانو اکسید روی در مقایسه با اکسید روی معمولی می باشد.

روش بررسی

در این مطالعه‌ی تجربی از موش سوری نر بالغ نژاد NMRI با وزن تقریبی، 25 ± 5 گرم استفاده گردید. موش‌ها از خانه‌ی حیوانات دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز تهیه شد. حیوانات به ۵ گروه ۷ تایی تقسیم شده و در قفس‌های پلاکسی گلاس در شرایط آزمایشگاهی با دمای 23 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد مجهز به سیستم تنظیم نور ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی همراه با تهویه‌ی مناسب به صورت دسته جمعی نگهداری شدند. نانو اکسید روی با اندازه کوچک‌تر از ۷۰ نانومتر (شرکت لولیتک آلمان) به میزان مورد نیاز روزانه قبل از شروع آزمایش به مدت ۲۰ دقیقه توسط دستگاه حمام اولتراسونیک S ۲۶۰۰ (شرکت پارس نهند ایران)، درسالی ۹/۰ درصد پراکنده شده و قبل از هر بار تزریق ترکیب مجدداً به مدت ۱ دقیقه توسط دستگاه شیکر نیز پراکنده گردید. اکسید روی معمولی (شرکت مرک آلمان) نیز به میزان مورد نیاز قبل از شروع آزمایش توسط دستگاه شیکر به مدت ۵ دقیقه در سالی ۹/۰ درصد پراکنده می شد. هر دو سایز اکسید روی به مقدار ۱ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۳) به صورت مزمن (به مدت یک‌ماه) و داخل صفاقی به گروه‌های دریافت کننده‌ی دارو تزریق شد و به گروه کنترل، سالی ۹/۰ درصد متناسب با وزن به صورت مزمن تزریق شد. دارو پس از آماده سازی به موش تزریق

نشان داده شده که نانو ذرات اکسید روی می‌توانند سبب بهبود آسیب‌های رفتاری و شناختی در موش‌های مبتلا به رفتارهای شبه افسردگی شوند که احتمالاً از طریق تنظیم پلاستیسیته سیناپسی نورون‌ها و عملکردهای قسمتی از مسیر پرفورانت به شکنج دنداندار می‌باشد (۴). از سوی دیگر مشخص شده کاربرد حاد نانو ذرات اکسید روی سبب تخریب حافظه در مدل یادگیری اجتنابی غیر فعال در موش‌های صحرایی می‌شود (۵). همچنین تزریق مزمن نانو اکسید روی در موش‌های صحرایی از طریق افزایش بیش از حد تقویت طولانی مدت (LTP: Long-Term Potentiation) در هیپوکامپ باعث کاهش توانایی شناخت فضایی می‌گردد (۶). نتایج حاصل از مطالعه‌ی برون تنی بر نورون‌های هرمی هیپوکامپ جدا شده موش‌های صحرایی نشان داد که این نانو ذره احتمالاً با افزایش داخل سلولی گونه‌های اکسیژن واکنشی (ROS: Reactive Oxygen Species) باعث آپوپتوز سلولی می‌شود. در این رابطه پیشنهاد شده است که نانو اکسید روی، می‌تواند سبب افزایش سطح سیتوزولی کلسیم شود، که این امر می‌تواند تولید ROS درون سلولی، و به دنبال آن پیشرفت آپوپتوز نورونی را در این ناحیه افزایش دهد (۷). ایزدی و همکارانش در سال ۲۰۱۰ گزارش کردند قرار گرفتن در معرض بخار روی ممکن است اثرات منفی بر حافظه و شناخت داشته باشد که این اثرات به نظر می‌رسد وابسته به سن و جنس باشد (۸). در مطالعه‌ی دیگری ولی پور و همکاران اثر منفی دوزهای ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم نانو اکسید روی بر فرایند حافظه در رت‌های ویستار را نشان دادند (۹). مطالعات دیگری حاکی از آنست که نانو اکسید روی دارای خاصیت دوگانه و متضادی است یعنی هم اثرات سیتو توکسیک و هم اثر آنتی اکسیدان کارآمدی را نشان می‌دهد (۱۰). با وجود مطالعات رفتاری محدودی که در این زمینه انجام شده، مطالعه‌ی چندانی در خصوص مقایسه اثر نانو اکسید روی و اکسید روی معمولی بر بافت‌های عصبی و

مساحت‌ها در هر ناحیه محاسبه و به‌عنوان معیار مقایسه در نظر گرفته شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها و رسم جداول از نرم افزار InStat نسخه ۳ و Word نسخه ۲۰۱۳ استفاده شد. جهت بررسی اثر داروها بر تعداد سلول‌های نکروزه از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و در شرایط نرمال بوده توزیع داده‌ها و یکسانی واریانس‌ها از تست توکی و غیر نرمال بودن داده‌ها از آزمون کروسکال والیس استفاده شد. $P < 0/05$ به عنوان معیار معنی‌دار بودن اختلاف‌ها در نظر گرفته شد. داده‌ها با میانگین \pm خطای استاندارد از میانگین (SEM) ارائه شدند.

یافته‌ها

۱- مقایسه تعداد هسته‌های پیکنوزه شده در نواحی مختلف لایه پیرامیدال هیپوکمپ گروه‌های دریافت کننده دوز ۱ میلی گرم در کیلوگرم اکسید روی معمولی، نانو اکسیدروی و گروه کنترل همان طور که در جدول ۱ نشان داده شده است.

می‌شد. ۲۴ ساعت بعد از آخرین تزریق (یک‌ماه) موش‌ها با کلروفورم کشته شده و مغز آن‌ها بلافاصله از داخل جمجمه برداشت شد و درون فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. سپس نمونه‌ها وارد فرایند آبگیری، شفاف سازی، آغشتگی با پارافین و نهایتاً قالب‌گیری شدند. بعد از قالب گیری با پارافین، برش گیری با میکروتوم انجام و برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرومتر تهیه گردید و با روش هماتوکسیلین-ائوزین (H&E) رنگ آمیزی شدند و با میکروسکوپ نوری OLYMPUS (مدل BX51TRF ژاپن) مورد مطالعه قرار گرفتند. برای مقایسه تعداد هسته‌های پیکنوزه شده در نواحی مختلف لایه پیرامیدال هیپوکمپ، نورون‌های هر می نکروزه در همه مناطق هیپوکمپ با لنزهای مورفومتریک در واحد میکرومتر مربع شمارش شد و میانگین هسته‌های نکروزه در هر ناحیه محاسبه گردید. در ضمن مساحت هسته ی سلول‌ها در هر کدام از نواحی هیپوکمپ متناسب با وسعت ناحیه در چندین میدان دید میکروسکوپی $\times 40$ به‌صورت تصادفی توسط نرم افزار متالوگرافی Image J اندازه‌گیری شد. سپس میانگین

جدول ۱: میانگین تعداد هسته‌های پیکنوزه \pm SEM نواحی مختلف هیپوکمپ گروه‌های سالین، اکسید روی معمولی و نانو اکسید روی به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم

نواحی	گروه‌ها	سالین	اکسید روی معمولی	نانو اکسید روی
CA1	$7 \pm 2/828$	$9/5 \pm 1/19$	$56/75 \pm 28/59^*$	
CA2	$1/5 \pm 0/5$	$3 \pm 0/912$	$8/333 \pm 5/333$	
CA3H	1 ± 1	$0/75 \pm 0/478$	$5/333 \pm 4/333$	
CA4	$0/5 \pm 0/5$	$0/75 \pm 0/478$	$5/666 \pm 5/175$	
DG	13 ± 3	$44/75 \pm 23/577$	$126/666 \pm 17/638^*$	

* با $P < 0/05$ نسبت به گروه سالین معنی‌دار است.

کاهش اندکی در مساحت هسته سلول‌ها نسبت به گروه دریافت کننده ی سالین و اکسید روی معمولی رخ داده است که این کاهش در ناحیه CA4 و DG نسبت به گروه دریافت کننده ی سالین معنی دار است ($p < 0.05$).

۲- مقایسه‌ی مساحت هسته‌ها در نواحی مختلف لایه پیرامیدال هیپوکمپ گروه‌های دریافت کننده‌ی دوز ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم اکسیدروی معمولی، نانو اکسید روی و گروه کنترل همان گونه که در جدول ۲ قابل مشاهده است در گروه تحت درمان با نانو اکسید روی، در همه نواحی هیپوکمپ

جدول ۲. میانگین مساحت هسته سلول‌ها $\pm SEM$ نواحی مختلف هیپوکمپ گروه‌های سالین، اکسید روی معمولی و نانو اکسید روی به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم

نواحی	گروهها	سالین	اکسید روی معمولی	نانو اکسید روی
CA1		۱۱۵/۵ \pm ۳/۳۷	۱۱۶/۲۰ \pm ۳/۶۲	۹۴/۸۷۲ \pm ۱۰/۸۲۴
CA2		۱۵۰/۵۲ \pm ۵/۵۶	۱۳۷ \pm ۶/۸	۱۱۵/۵۱ \pm ۱۱/۲۶
CA3		۱۳۱/۳۲۵ \pm ۱۱/۰۰۵	۱۲۲/۳۴ \pm ۴/۱	۱۱۱/۰۵۳ \pm ۱۳/۵۴۳
CA4		۱۲۹/۶۳ \pm ۵/۱	۱۲۲/۸۱۷ \pm ۲/۵۸۸	*۷۰/۱۷۷ \pm ۱۲/۲۸۷
DG		۸۴/۴۰۵ \pm ۲/۸۹۵	۸۸/۶۷۲ \pm ۵/۰۱۳	*۵۵/۴۰۷ \pm ۸/۲۹۴

*با آنالیز واریانس یکطرفه ($P < 0.05$) نسبت به گروه دریافت کننده سالین معنی دار است.

جدول ۳. میانگین تعداد هسته‌های پیکنوزده شده $\pm SEM$ نواحی مختلف هیپوکمپ گروه‌های سالین، اکسید روی معمولی و نانو اکسید روی ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم

نواحی	گروهها	سالین	اکسید روی معمولی	نانو اکسید روی
CA1		۷ \pm ۲/۸۲۸	۷/۶ \pm ۱/۲۸۸	۹/۳۳۳ \pm ۱/۸۵۶
CA2		۱/۵ \pm ۰/۵	۱۱/۸ \pm ۶/۴۷۸	۲ \pm ۰/۵۷۷
CA3		۱ \pm ۱	۸/۶ \pm ۷/۶۰۸	۱۲ \pm ۶/۰۲۸
CA4		۰/۵ \pm ۰/۵	۹/۴ \pm ۰/۴	۷/۶۶۶ \pm ۴/۹۷۸
DG		۱۳ \pm ۷	۴۶/۸ \pm ۲۹/۸۵۹	۴۹/۶۶۶ \pm ۲۰/۲۱۸

پیرامیدال هیپوکمپ گروه‌های دریافت کننده‌ی دوز ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم اکسیدروی معمولی، نانو اکسید روی و گروه کنترل همان طور که در جدول ۴ ملاحظه می‌شود میانگین مساحت هسته‌ها در دو گروه دریافت کننده‌ی نانو اکسید روی و اکسید روی معمولی به طور معنی‌داری در همه نواحی هیپوکمپ کاهش نشان داده است.

شکل ۱ اثرات پیکنوزه کننده دو دوز ۱ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو ذرات اکسید روی را بر ساختار بافتی نواحی مختلف هیپوکمپ به خوبی نشان می‌دهند.

۳- مقایسه‌ی تعداد هسته‌های پیکنوزه شده در نواحی مختلف لایه پیرامیدال هیپوکمپ گروه‌های دریافت کننده‌ی دوز ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم اکسیدروی معمولی، نانو اکسیدروی و گروه کنترل نتایج این قسمت از پژوهش در جدول ۳ نشان داده شده است. همچنان که ملاحظه می‌شود تفاوت معنی‌داری بین تعداد سلول‌های پیکنوزه در گروه دریافت کننده نانو اکسید روی نسبت به گروه کنترل و دریافت کننده اکسید روی معمولی مشاهده نشد.

۴- مقایسه‌ی مساحت هسته‌ها در نواحی مختلف لایه

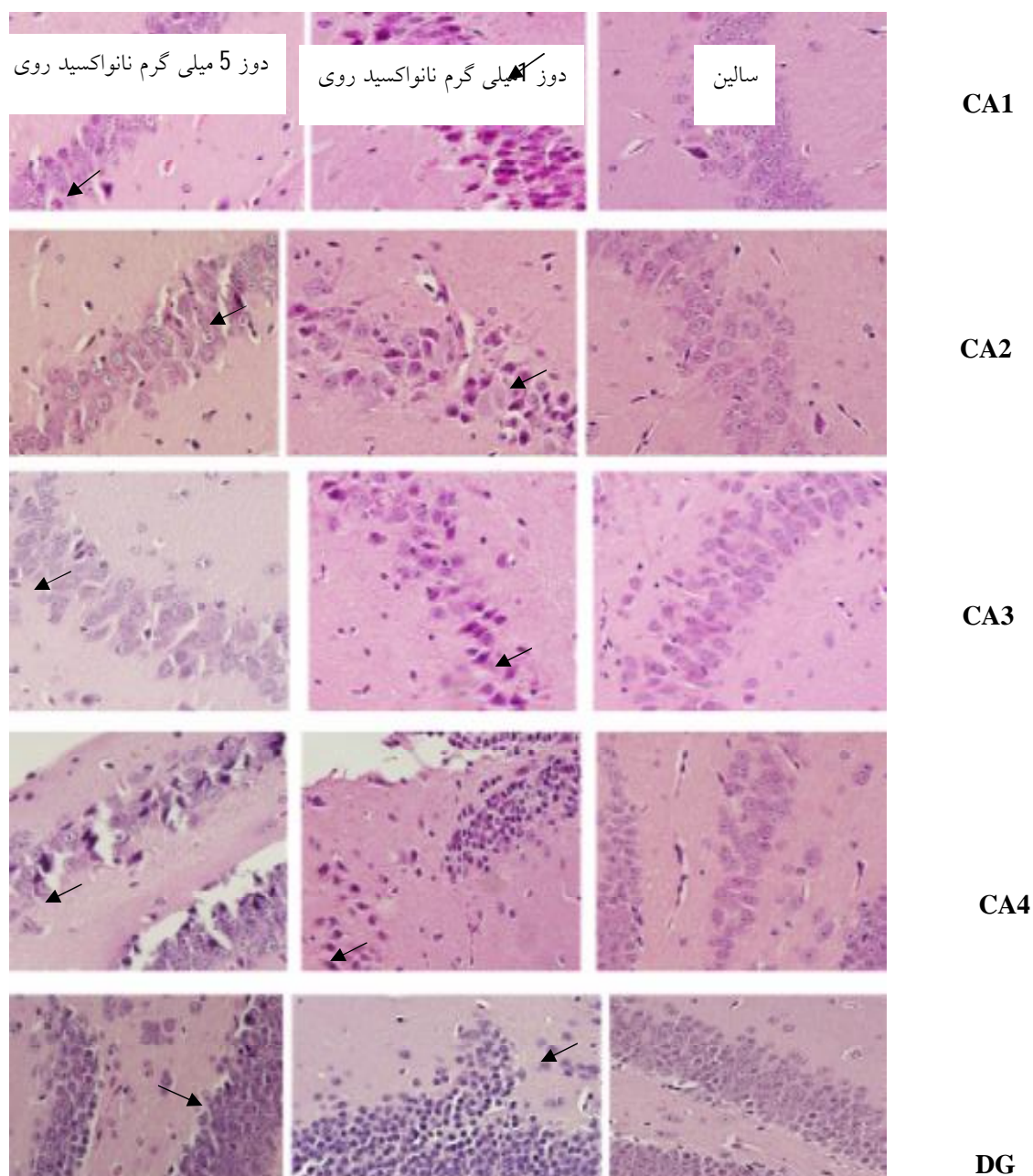
جدول ۴: میانگین مساحت هسته سلول‌ها $\pm SEM$ نواحی مختلف هیپوکمپ گروه‌های سالین، اکسید روی معمولی و نانو اکسید روی به میزان ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم

نواحی	گروهها	سالین	اکسید روی معمولی	نانو اکسید روی
	CA1	۱۱۵/۴۷۵ \pm ۳/۳۶۵	۸۳/۳۰۴ \pm ۳/۳۲۴**	۹۰/۸۲۶ \pm ۵/۹۷۷*
	CA2	۱۵۰/۵۲ \pm ۵/۵۶۰	۱۰۷/۰۶۸ \pm ۱/۹۹۳**	۱۰۳/۹۹ \pm ۸/۷۹۵**
	CA3	۱۳۱/۳۲۵ \pm ۱۱/۰۰۵	۸۷/۱۰۵ \pm ۳/۳۲۸**	۹۳/۱۶۶ \pm ۳/۶۰۸**
	CA4	۱۲۹/۶۳ \pm ۵/۱۰۰	۷۸/۵۸۶ \pm ۶/۱۴۸**	۸۳/۵۹۶ \pm ۷/۲۲۶*
	DG	۸۴/۴۰۵ \pm ۲/۸۹۵	۵۸/۳۴۲ \pm ۲/۳۲۲***	۶۰/۱۸۴ \pm ۰/۹۹۶**

* با آنالیز واریانس یکطرفه ($P < ۰/۰۵$) نسبت به گروه سالین معنی‌دار است.

** با آنالیز واریانس یکطرفه ($P < ۰/۰۱$) نسبت به گروه سالین معنی‌دار است.

*** با آنالیز واریانس یکطرفه ($P < ۰/۰۰۱$) نسبت به گروه سالین معنی‌دار است.



شکل ۱: بافت شناسی نواحی مختلف هیپوکامپ موش‌های دریافت کننده سالین، دریافت کننده نانو اکسید روی دوز ۱ میلی گرم در کیلوگرم و دریافت کننده نانو اکسید روی دوز ۵ میلی گرم در کیلوگرم تغییرات دژنراتیو و جمع شدگی سیتوپلاسمی و هسته‌های پیکنوزه (↓) در سلول‌های نواحی مختلف گروه‌های دریافت کننده نانو اکسید روی قابل مشاهده است (H&E، ×۲۰).

بحث

برخی از نواحی هیپوکامپ در موش‌های سوری شد (شکل ۱). همچنین مشخص شد نانو ذرات اکسید روی در

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد نانو ذرات اکسید روی به طور وابسته به مقدار، سبب آسیب و تخریب

همچنین آسیب‌های پاتولوژیک نانو اکسید روی در معده، کبد، قلب و طحال موش (۲۱) و نیز در سلول‌های گلمرولی و توبولی کلیه انسان (۲۲) بر اساس استرس اکسیداتیو و سمیت سلولی نشان داده شده است. مشخص شده نانو ذرات اکسید روی باعث آپوپتوز در سلول‌های سرطان استخوان آلئول انسان (A۵۴۹) از طریق ROS و استرس اکسیداتیو به واسطه p۵۳ و مسیر کاسپاز می‌شوند. نانو اکسید روی فعالیت کاسپاز ۳ و کاسپاز ۹ را نیز به شیوه‌ای وابسته به غلظت و زمان القا می‌کند (۲۳). کاسپازها با عمل بر روی سوبستراهای خاصی تغییرات بیوشیمیایی و مرفولوژیکی از جمله چروک شدن سلول، متراکم شدن کروماتین و قطعه قطعه شدن DNA را در سلول‌های آپوپتوتیک ایجاد می‌کنند (۲۴). از سوی دیگر در این مطالعه مشاهده شد که با افزایش مقدار نانو اکسید روی اثرات پیکنوزه کننده آن بر نواحی مختلف کاهش یافته و تقریباً مشابه با اکسید روی معمولی باعث کاهش معنی‌دار مساحت هسته در نواحی مختلف هیپو کمپ گردید (جداول ۳ و ۴). پس یک نوع تفاوت اثر بین مقادیر مختلف نانو اکسید روی مشاهده گردید. در توجیه اینکه چرا نانو اکسید روی با افزایش مقدار، مشابه اکسید روی معمولی عمل می‌نماید شواهدی وجود دارد که این نتایج را تایید می‌کند. برخی مطالعات نشان داده اند که نانو ذرات در مقادیر بالا در حلال خود تمایل به جمع شدن دارند و از حالت نانو خارج می‌شوند همین امر باعث تغییر اثرات آنها در بدن می‌شود (۲۵ و ۲۶).

بنابراین در دوز ۵ میلی‌گرم احتمالاً در طی مراحل آماده سازی دارو، نانو اکسید روی تجمع یافته و ممکن است با تشکیل پیوند بین مولکول‌ها و با کاهش مساحت سطحی از حالت نانو خارج شده (۲۷ و ۱۵) و تقریباً مشابه فرم معمولی عمل می‌نماید در نتیجه کمتر به سیستم عصبی مرکزی نفوذ نموده و مقدار اندکی از فرم نانو که نفوذ کرده منجر به دژنراسیون نورون‌ها و کوچک شدن آنها شده است. مطالعات

مقادیر پایین (۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به اکسید روی معمولی اثرات تخریبی معنی‌داری در بخشی از هیپوکمپ ایجاد نموده، در حالی که در دوز مشابه، اکسید روی معمولی اثری نداشت. این اثر تخریبی با افزایش تعداد سلول‌های پیکنوزه و کاهش مساحت هسته‌ی آنها در ناحیه DG مشاهده شد (جداول ۱ و ۲)

روشن است که پدیده ی پیکنوزه شدن با تغییرات تحلیلی از قبیل چروکیده شدن هسته و متراکم و هیپرکروماتیک شدن کروماتین هسته شناسایی می‌گردد. این عمل حاکی از قرار گرفتن سلول‌ها در مسیر نکروز است و این مطالعه به خوبی اثر تخریبی نانو ذرات اکسید روی را نشان داد. در تایید این نتایج مطالعات نشان می‌دهند که نانو ذرات برای ورود به داخل سلول‌ها یا مستقیماً از غشا سلول عبور می‌کنند و یا از خلال کانال‌ها و پروتئین‌های غشا و برخی نیز به واسطه ی آندوسیتوز وارد سلول می‌شوند (۱۴). نانو ذرات باعث اختلال در سد خونی- مغزی شده و به راحتی از آن عبور می‌کنند (۱۶ و ۱۵). تحقیقات مشابه موید نتایج این پژوهش می‌باشد، به طوری که مطالعه روی سلول‌های اپیدرمی در انسان نشان داد نانو ذره‌ی اکسید روی باعث آسیب بالقوه به DNA می‌شود. همچنین مشخص شده نانو ذرات اکسید روی باعث القای تنش اکسیداتیو در سلول‌ها با کاهش گلوکاتایون، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز (۱۷) که از جمله عوامل آنتی‌اکسیدانی هستند (۱۸) می‌شود. سلول‌های نوروبلاستوما ی موش پس از قرار گرفتن در معرض اکسید روی از نظر مورفولوژی غیر طبیعی شده و جمع شدگی سلولی، جدا شدن از سطح ظرف و همچنین کاهش عملکرد میتوکندریایی را نشان می‌دهند (۱۹). همچنین نشان داده شده باکتری *E. coli* پس از تماس با نانو اکسید روی دچار بهم ریختگی‌های غشای گرم منفی شده که این رفتار منجر به افزایش نفوذ پذیری غشا و تجمع نانو ذرات اکسید روی در غشای باکتری‌ها و نیز درون سلول‌ها می‌شود (۲۰).

آسیب اکسیداتیو انجام می‌دهند. ضمن آنکه سلول‌های گرانولی ناحیه شکنج دندان‌دار (DG) هیپوکمپ نسبت به سایر نواحی آسیب پذیرتر است.

تشکر و قدردانی

این تحقیق بخشی از پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد بوده که با کمک‌های مالی و معنوی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز اجرا شده است که بدین وسیله تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

References

- 1- Handy RD, Von Der Kammer F, Lead JR, Hasselov M, Owen R, Crane M. The eco toxicity and chemistry of manufactured nanoparticles. *Ecotoxicol J.* 2008; 17: 287-314.
- 2- Emamifar A, Kadivar M, Shahedi M, Soleimani-Zad S. Evaluation of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on shelf life of fres horange juice. *Innov Food sci Emerg Technol.* 2010; 11: 742-48.
- 3- Torabi M, Kesmati M, Eshagh Harooni H, Najafzadeh Varzi H. Different efficacy of nanoparticle and conventional zno in an animal model of anxiety. *Neurophysiology.* 2013; 45: 299-305.
- 4- Xie Y, Wang Y, Zhang T, Ren G, Yang Z. Effect of nanoparticale zinc oxide on spatial cognition and synaptic plasticity in mice with depressive – like behaviors. *J Biomed Sci.* 2012; 19: 14.
- 5- Valipour Chahardahcharic S, Kesmati M, Vahdati A, Hoseini SE. The effects of acute

آزمایشگاهی در محیط کشت سلولی نیز این نتیجه را تایید می‌نماید به طوری که نشان داده شده که با افزایش غلظت نانو اکسید روی انحلال پذیری نانو ذرات و در نتیجه سمیت نانو ذرات کاهش می‌یابد (۲۸).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج می‌توان گفت نانو ذرات اکسید روی نسبت به اکسید روی معمولی در مقادیر کم باعث دژنراسیون نورونی می‌شوند که احتمالاً این اثر را با تولید ROS و

administration of zinc oxidenanoparticles on long term memory in the presence and absence of vitamin C in adult male rat. *Adv Environ Biol.* 2014; 8: 260-66.

6- Han D, Tian Y, Zhang T, Ren G, Yang Zh. Nano-zinc oxide damages spatial cognition capability via over-enhanced long-term potentiation in hippocampus of wistar rats. *Int J of Nanomedicine.* 2011; 6: 1453-61.

7- Zhao J, Yao Y, Liu S, Zhang T, Ren G, Yang Zh. Involvement of reactive oxygen species and high-voltage-activated calcium currents in nanoparticle zinc oxide-induced cytotoxicity in vitro. *J Nanopart Res.* 2012; 14: 1238.

8- Eizadi-Mood N, Pourabdian S, Fallah M. Effects of chronic zinc fume exposure on memory and cognition. *Iran J Toxicol.* 2010; 3: 317-23.

10- Valipour Chahardahcharic S, Kesmati M, Vahdati A, Hoseini SE. The effects of acute administration of zinc oxidenanoparticles on long term memory in the presence and absence of

- vitamin C in adult male rat. *Adv Environ Biol*. 2014; 8: 260-266.
- 11- Das D, Nath BC, Phukon P, kalita A, Dolui SK. Synthesis of ZnO nanoparticles and evaluation of antioxidant and cytotoxic activity. *Colloids Surf B*. 2013; 1: 556-60.
- 12- Ahmed AWH, Nameer TG. Histological and morphological analysis of the hippocampal subfields in the adult rat. *J Fac Med Baghdad*. 2009; 51: 323-27.
- 13- Tulving E. Episodic and semantic memory. In: Tulving & W. Donaldson (Eds.), *Organization of memory*. APA; 1972. p. 381-403.
- 14- Tien RD, Felsberg JG, Barbara C. Normal anatomy of the hippocampus and adjacent temporal lobe: high-resolution fast spin-echo mr images in volunteers correlated with cadaveric histologic sections. *ARRS*. 1992; 159: 1309-13.
- 15- Chang YN, Zhang M, Xia L, Zhang J, Xing G. The toxic effects and mechanisms of CuO and ZnO nanoparticles. *Materials*. 2012; 5: 2850-71.
- 16- Schrand AM, Rahman MF, Hussain SM, Schlager JJ, Smith DA, Syed AF. Metal-based nanoparticles and their toxicity assessment. *WIREs Nanomed Nanobiotechnol*. 2010; 2: 544-568.
- 17- Win-Shwe TT, Fujimaki H. Nanoparticles and neurotoxicity. *Int J of Molecular Sci*. 2011; 12: 6267-80.
- 18- Sharma V, Shukla RK, Saxena N, Parmar D, Das M, Dhawan A. DNA damaging potential of zinc oxide nanoparticles in human epidermal cells. *Toxicol lett*. 2009; 185: 211-218.
- 19- Kamali M, Rostami AA, mohseni Kouchesfehani H. Invitro cytotoxicity effects of nanoparticles. *NCMBJ*. 2013; 12: 65-72.
- 20- Chibber S, Ahmed Ansari S, Satar R. New vision to CuO, ZnO, and TiO₂ nanoparticles: their outcome and effects. *J Nanopart Res*. Vol. 2013; 15: 1-13.
- 21- Brayner R, Ferrari-Iliou R, Brivois N, Djedia S, Benedetti MF, Fiévet F. Toxicological impact studies based on *Escherichia coli* bacteria in ultrafine znO nanoparticles colloidal medium. *Nano Lett*. 2006; 6: 866-870.
- 22- Wang B, Feng W, Wang M, et al. Acute toxicological impact of nano- and submicro-scaled zinc oxide powder on healthy adult mice. *J Nanopart Res*. 2008; 10: 263-76.
- 23- Pujalte I, Passagne I, Brouillaud B, et al. Cytotoxicity and oxidative stress induced by different metallic nanoparticles on human kidney cells. *Part Fibre Toxicol*. 2011; 3: 10.
- 24- Ahamed M, Akhtar MJ, Raja M, et al. ZnO nanorod-induced apoptosis in human alveolar adenocarcinoma cells via p53, survivin and bax/bcl-2 pathways: role of oxidative stress. *Nanomed: Nanotech, Biol Med*. 2011; 7: 904-13.
- 25- Honardoost M, Soleimanjahi H, Rajaei F. Apoptosis: programmed cell death . *J Qazvin Univ Med Sci*. 2013; 17: 48-57.
- 26- Adams L, Lyon D, Alvarez P. Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO₂, SiO₂, and ZnO water suspensions. *Water Res*. 2006; 40: 3527-32.
- 27- Singh R, Pantarotto D, Lacerda L, et al. Tissue bio-distribution and blood clearance rates

of intravenously administered carbon nanotube radiotracers. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006; 103: 3357-62.

28- Bai W, Zhang Z, Tian W, et al. Toxicity of zinc oxide nanoparticles to zebrafish embryo: a

physicochemical study of toxicity mechanism. *J Nanopart Res*. 2010; 12: 1645-54.

29- Deng X, Luan Q, Chen W, et al. Nanosized zinc oxide particles induce neural stem cell apoptosis. *Nanotechnology*. 2009; 20: 7.

The Effect of Chronic Administration of Conventional and Nano-Sized Zinc Oxide on the Hippocampus Tissue of Adult Male Mice

Isapare N¹, Kesmati M¹, Mohammadi T¹

¹Dept. of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran

Corresponding Author: Kesmati M, Dept. of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran.

E-mail: m.kesmati@scu.ac.ir

Received: 29 Nov 2014 **Accepted:** 12 Jul 2015

Background and Objective: Zinc oxide (ZnO) nanoparticles are widely used in the medical, industrial, pharmaceutical and nutritional fields and contradictory results in neurological studies of these compounds in comparison with the conventional pattern demand further investigation. The purpose of this study was to evaluate the histology of hippocampus (an area involved in memory) following chronic administration of ZnO nanoparticles in comparison with the conventional pattern.

Materials and Methods: NMRI adult male mice weighing 25 ± 5 g were assigned to five groups: control (saline), recipient of nano ZnO and conventional ZnO in doses of 1 and 5 mg/kg. After one month of treatment with these, animals were euthanized and their brains were removed from the hippocampus for histological study.

Results: While ZnO nanoparticles led to necrosis of cells in some areas of the hippocampus, conventional ZnO did not exhibit such considerable damage. These changes were more pronounced at a dose of 1 mg/kg of ZnO nanoparticles.

Conclusion: ZnO nanoparticles may pass through the blood-brain barrier and induce harmful effects on cells in hippocampus. It is recommended to take necessary precautions while using combinations of nano drugs.

Keywords: Hippocampus, Nanoparticles, Zinc Oxide, Mice